

УДК 631.528.632.

В. О. Васько, О. В. Гудим, аспірантки

Т. І. Гопцій, д-р с.-г. наук, професор

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(м. Харків, Україна)

В. В. Кириченко, д-р с.-г. наук, професор

Інститут рослинництва імені В. Я. Юр'єва,
(м. Харків, Україна)

МІНЛИВІСТЬ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК РОСЛИН ПІД ВПЛИВОМ ГАММА-ПРОМЕНІВ

Показано, що обробка насіння соняшнику *Helianthus annuus* L. та амаранта *Amaranthus hypochondriacus* L. гамма-променями є ефективною для індукування широкого спектра та високої частоти морфологічних змін. У паралельних дослідженнях авторів проаналізовано популяції M_1 та M_2 соняшнику і амаранта та виділено ряд морфозів індукованих різними дозами гамма-променів.

Ключові слова: соняшник, амарант, гамма-промені, морфологічні зміни, популяція, мутагенез, доза випромінювання.

Постановка проблеми. Ефективним методом створення нових форм у селекції сільськогосподарських культур є фізичний мутагенез. Свідченням цього є досвід світової селекції – із 1611 мутантних сортів різних культур за допомогою радіаційного мутагенезу створено 999 (62 %).

Індукований мутагенез є одним із сучасних методів селекції, який дає змогу збагачувати ресурси за генетичною мінливістю, даючи селекціонерам новий вихідний матеріал для проведення добору в подальшому створенні сортів та гібридів. Цей метод спрямовано на штучне одержання життєздатних рослин з мутаціями. Мутагенні чинники в селекції рослин найчастіше використовують при створенні нових форм, які відрізняються від вихідних сортів за окремими ознаками: крупністю насіння, висотою рослин, формою листка, забарвленням насіння, стійкістю до збудників захворювань, тривалістю вегетаційного періоду, вмістом і якістю білка та жиру в насінні [8].

Перші спроби вплинути на рослини за допомогою рентгенівських або ультрафіолетових променів зробив італієць Альберто Пірвано у 1922 р. [14]. У 1925 р. Г. А. Надсон та Г. С. Філіпов повідомили, що вплив іонізуючого випромінювання призводить до появи мутацій у нижчих грибів [1]. У 1927 р. Меллер [13] встановив, що рентгенівські промені мають помітний вплив на частоту мутацій у *Drosophila*, а через рік Стадлером було підтверджено ці дані у дослідженнях з кукурудзою та ячменем.

Генетичну дію іонізуючого випромінювання найбільш глибоко було вивчено на рослинах і мікроорганізмах. Ще в 1928 р. Л. М. Делоне, а в 1934 р. А. А. Сапегін застосували рентгенівське випромінювання для отримання мутацій у селекції.

І.О. Полякова аналізувала вплив гамма-опромінення на спадкову мінливість у льону олійного та отримала широкий спектр мутацій при опроміненні насіння дозами 400 Гр, 700 Гр [10]. Уперше у льону описано сім типів морфологічних мутацій. Отримано оригінальні мутанти з підвищеним вмістом олії зі зміненим жирнокислотним складом.

М.О. Войтович зі співробітниками вивчали спектр мінливості індукованої гамма-опроміненням дозою 150 Гр на листки рицини у M_1 та виявили цілий спектр морфологічних змін листової пластинки [5].

О. В. Панкова [9] у результаті обробки насіння гамма-променями у дозах 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр та 250 Гр та подальшого схрещування з житом виявила, що зав'язуваність гібридних зернівок залежить від дози гамма-опромінення.

S.J. Jambhulkar і D.C. Joshua [11] встановили ефективність гамма-опромінення в дозі 200 Гр для створення хлорофільних та морфологічних мутантів соняшнику. Індійські вчені отримали мутант соняшнику, який має 125 листків (у батьківської лінії 30-35) та карлик висотою 11 см (при висоті 180 см у батьківської форми) [12].

Encheva J. та ін. дібрали мутантні форми соняшнику з новими морфологічними та біохімічними ознаками, стійкі до деяких патогенів у результаті обробки зародків ультразвуком [7].

Проводяться дослідження з впливу диметилсульфату та гамма-променів на цінні господарські ознаки мутантних ліній соняшнику, отриманих з насіння, обробленого мутагенами. Встановлено, що гамма-промені у M_1 та M_2 покоління спричиняють депресію рослин за висотою, діаметром кошика та кількістю листків [2].

Дослідження впливу фізичних та хімічних мутагенів на морфологічні ознаки рослин амаранта проведено в 1990 р. [4], з 2014 р. проводиться робота з аналізу індукування гамма-опроміненнями мінливості морфозів M_1 та M_2 сортів амаранта виду *A. hypochondriacus* L.[5].

Метою наших досліджень є вивчення частоти та спектра морфофізіологічних змін у популяцій M_1 та M_2 соняшнику та амаранта, вирощених з насіння, обробленого різними дозами гамма-променів.

Матеріали та методи досліджень. З 2014 р. на кафедрі генетики селекції та насінництва проводяться дослідження з впливу індукованого мутагенезу на соняшник та амарант. Джерело випромінювання – ^{60}Co .

До досліду залучено три сорти амаранта: *A. hypochondriacus*, Сем, Харківський -1, Студентський.

З метою одержання цінних у господарському відношенні форм амаранта проводили обробку насіння гамма-променями. Джерело випромінювання – ^{60}Co . Дози випромінювання – 15 Гр, 30Гр, 40 Гр, 150 Гр, 400 Гр та 700 Гр.

Матеріалом для дослідження мутагенної дії γ -опромінення слугували популяції рослин M_1 та M_2 соняшнику, отримані в результаті обробки насіння 12 самозапильних ліній гамма-променями (120 Гр та 150 Гр). Починаючи зі стадії сходів і до закінчення цвітіння відмічали морфологічні та хлорофільні аномалії розвитку рослин соняшнику та амаранта.

Польові досліди проводили відповідно до методики польового досліду [6]. Фенологічні спостереження та обліки – за методикою державного сортовипробування сільськогосподарських культур.

Результати досліджень. Отримані результати дозволяють констатувати лише появу морфозів, тобто рослин з морфологічними або іншими змінами. Відомо, що переважна більшість змінених ознак, виявлених у M_1 , не успадковується в M_2 [4]. Морфологічні зміни рослин M_1 можуть бути не мутаційними, а зумовленими фізіологічними причинами.

У результаті опромінення у поколінні M_1 було отримано ряд морфозів, пов'язаних зі зміною рослин амаранта. Найчастіше траплялися такі аномалії: розгалуження основного стебла у нижній частині; розгалуження стебла у верхній частині; потрійне стебло; колосоподібна і булавоподібна волоть, перевірка яких у M_2 підтвердила наявність мутації. Також у M_2 відібрано рослини зі змінами морфологічних ознак: ранньостиглість, чорне насіння у білонасінних сортів, зелена або червона волоть. Перевірку цих змін буде продовжено в M_3 (рис. 1).

Під час обробки насіння амаранта гамма-променями в дозах 400 Гр та 700 Гр сходи були нормальними, але вже через тиждень картина різко змінювалася, сім'ядолі жовкли і засихали. Опромінення призводило до загибелі зовнішньо нормальних рослин. Це пояснюється тим, що під час дії мутагенних чинників часто відбувається ріст клітин шляхом розтягнення, внаслідок чого насіння проростає, а потім гине [5].

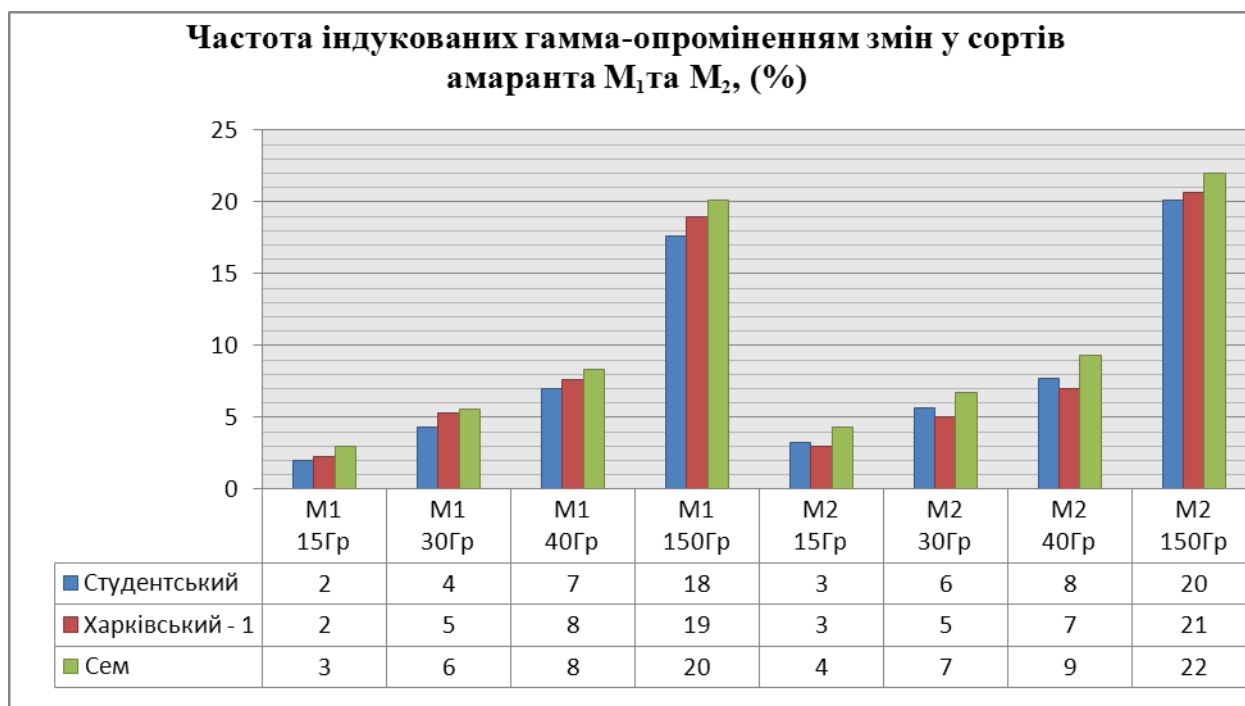


Рис. 1. Вплив гамма-опромінення на кількість змінених рослин M₁ та M₂ амаранта

Одну з найбільших груп змін, набутих унаслідок мутагенного впливу, складають хлорофільні мутації. Вони призводять до повного або часткового порушення синтезу хлорофілу в рослині. Такі аномалії можуть викликати зниження життєздатності організму внаслідок пригнічення асиміляційних процесів і навіть загибель рослин. Прикладом цього є загибель рослин амаранта під час опромінення насіння дозою 700 Гр.

У результаті досліджень встановлено, що оптимальною дозою для отримання морфофізіологічних змін є 150 Гр, оскільки саме у цьому варіанті одержано максимальну загальну кількість індукованих змін. Відсутність морфофізіологічних змін під впливом гамма-опромінення дозою 400 Гр пояснюється загибеллю рослин.

Аналіз M₁ соняшнику показав, що загальна частота морфофізіологічних змін, викликаних гамма-променями, була високою для всіх досліджуваних зразків, що свідчить про істотний вплив опромінення на ріст і розвиток мутантного покоління соняшнику. У 2014 р. у M₁ соняшнику було виділено широкий спектр морфофізіологічних змін різного типу, це порушення синтезу хлорофілу, зміна забарвлення, форми та розміру кошика, деформації габітусу рослини, варіювання висоти, жилкування листків, їх форми, кількості та ін. У 2015 р. нами було виділено ряд морфофізіологічних мутацій у M₂ соняшнику, які успадкувалися від M₁. Відсоток

морфологічних змін у M_2 був нижчим порівняно з M_1 , але це несуттєво вплинуло на вихід соматичних змін у M_2 (рис. 2).

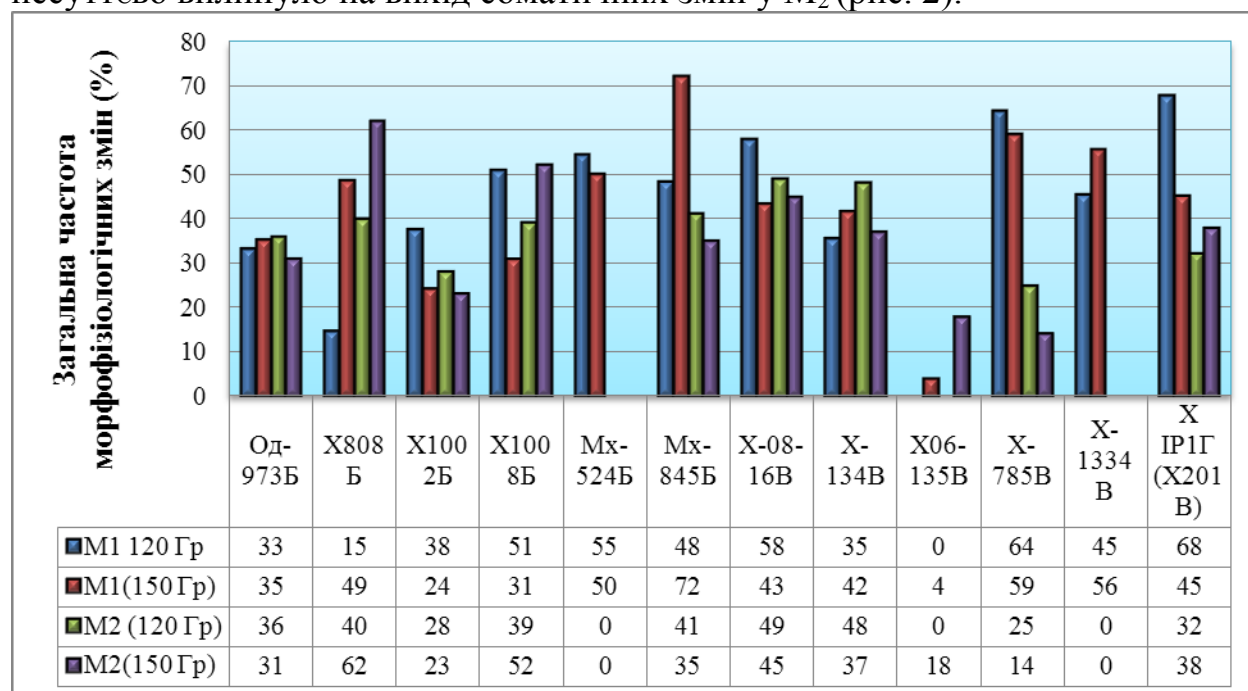


Рис. 2 Вплив гамма-променів на загальну частоту морфологічних змін у M_1 та M_2 соняшнику

У результаті аналізу характеру морфологічних змін встановлено, що більшість із них пов'язана із забарвленням листків, видозмінами кошику та варіюванням по висоті. На справжніх листках у M_1 покоління обробленого гамма-променями було виявлено білі та жовті сектори, спостерігались рослини-альбіноси та рослини із хлорофільною точкою росту у фазу зірочки. У M_2 виділено рослину з еректоїдним розташуванням листків з дихотомічним жилкуванням та видозміненим кошиком (дозою опромінення 150 Гр). Також було виділено низькорослі мутантні форми.

Висновки. У результаті дослідження частоти і спектра морфологічних змін у популяціях M_1 та M_2 соняшнику та амаранта, вирощених з насіння, обробленого різними дозами гамма-променів встановлено:

-Дози гамма-променів 120 Гр та 150 Гр є найбільш ефективними для індукування широкого спектра і частоти морфологічних змін у соняшнику та амаранта;

-одержано ряд морфозів різних типів у M_1 та M_2 соняшнику і амаранта та виділено мутантні форми, перевірка яких у M_2 підтвердила наявність мутації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бригс Ф. Научные основы селекции растений /Ф. Бригс, П. Ноулз / пер.с англ. Л. И. Вайсфелд, Ю. И. Лашкевич. – М.: Колос, 1972.
2. Васько В.О. Вплив хімічного та фізичного мутагенів на господарсько цінні ознаки M_1 соняшнику/ В О. Васько// Вісник ХНАУ (Серія «Рослинництво, селекція і насінництво, плодовоовочівництво і зберігання»). – Х., 2015. -. Вип. 2. – С. 55 – 66.
3. Войтович О. М. Індукована гамма-опроміненням мінливість морфологічних ознак листя рицини у поколінні M_1 / О. М. Войтович, Н. О. Ушкевич // Запоріж. нац. ун-т. Електронне наукове видання «Актуальні питання біології, екології та хімії» - Розд. «Генетика та фізіологія рослин». – 2010. – С. 52-59.
4. Гопцій Т. І. Амарант: біологія, вирощування, перспективи використання, селекція [Текст] / Т. І. Гопцій ; Харк. держ. аграр. ун-т ім. В.В. Докучаєва. - Х., 1999. - 272 с.
5. Гудим О. В. Індукована мінливість морфологічних ознак у рослин амаранта при використанні гамма-опромінення / О. В. Гудим / Вісник ХНАУ (Сер. «Рослинництво, селекція і насінництво, плодовоовочівництво та зберігання»). – Х., 2015. – Вип. 2. – С. 66 – 74.
6. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта [Електронний ресурс]: учеб. для студ. высш. с.-х. учеб. заведений / Б. А. Доспехов. - 5-е изд., доп. и перераб. - М.: Агропромиздат, 1985. - 351 с. - (Учебники и учебные пособия для высших сельскохозяйственных учебных заведений).
7. Encheva J. Mutant sunflower line R12003, produced through *in vitro* mutagenesis / J. Encheva, P.Shindrova, V.Encheva, D. Valkova // Helia. – 2012. – Vol. 35, № 56. – P. 19-30.
8. Козаченко М. Р. Експериментальний мутагенез в селекції ячменю [Текст]: [монографія] / М. Р. Козаченко ; НААН України, Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. - Х.: [б. в.], 2010. - 296 с.
9. Панкова О.В. Особливості схрещування м'якої пшениці та жита залежно від дії різних доз гамма-променів / О. В. Панкова, В. К. Пузік// Вісник ХНАУ (Сер. «Рослинництво, селекція і насінництво, плодовоовочівництво та зберігання»). – 2012. - №102. – С. 99-105.
10. Полякова И. А. Индуцированные гамма-лучами мутации белой окраски цветка и их наследование у льна масличного / И. А. Полякова, Л. Ю. Мищенко, В. А. Лях // Наук. пр. Полтав. держ. аграр. акад. (Сер. "Сільськогосп. науки"). – 2002. - № 1. - С. 37-39.
11. Jambhulkar S.J. Induction of plant injury, chimera, chlorophyll and morphological mutations in sunflower using gamma rays / S.J. Jambhulkar, D.C. Joshua // Helia. – 1999. – Vol. 22, № 31. – P. 63-74.

12. Jambhulkar S.J. Development and utilisation of genetic variability through induced mutagenesis in sunflowers (*Heliantus annuus* L.) /S .J. Jambhulkar, A.S. Shitre. // Abstracts of the FAO/IAEA International Symposium on Induced Mutations in Plants. – 12-15 August 2008, Vienna, Austria. – P.21.

13. Muller H. J. Artificial transmutation of the gene /H. J Muller // Science, 1927. jul 22;66(1699):84-7.

14. Spenser J. L. The electrogenetics of Alberto Pirovano. New York, Hafner Publish. Co.,1964. – P.

*Стаття надійшла до редакції
05.05.2016*

В. О. Васько, аспірантка

Е. В. Гудым, аспірантка

Т. И. Гопций, д-р с.-х. наук, професор

Харьковский национальный аграрный

университет им. В. В. Докучаева

г. Харьков, Украина

В. В. Кириченко, д-р с.-х. наук, професор

Институт растениеводства имени В. Я. Юрьева,

г. Харьков, Украина

Изменчивость морфологических признаков растений под влиянием гамма-лучей

Показано, что обработка семян подсолнечника *Helianthus annuus* L. и амаранта *Amaranthus hypochondriacus* L. гамма-лучами является эффективной для индукции широкого спектра и высокой частоты морфофизиологических изменений. В параллельных исследованиях авторов проанализировано популяции M_1 и M_2 подсолнечника и амаранта, выделен ряд морфоз индуцированных разными дозами гамма-лучей.

Ключевые слова: подсолнечник, амарант, гамма-лучи, морфофизиологические изменения, популяция, мутагенез, доза излучения.

V.O.Vas`ko, postgraduate students

O.V. Gudym, postgraduate students

T. I. Goptsiy, doctor of agriculture sciences, professor

Kharkiv national agricultural university

named after V.V. Dokuchaev,

Kharkiv, Ukraine

V. V. Kyrychenko, doctor of agriculture sciences, professor

The plant production institute nd. a. V. Ya. Yuryev of NAAS

Kharkov, Ukraine

Morphological variability features of plants under the influence of gamma-rays

Efficiency of physical mutagens, which are used in breeding crops for creation of new forms, is important. Proof of this data is shown in the international experience by creating mutant varieties, among the 1611 mutant varieties of different cultures 999 were created by radiation mutagenesis. The first attempts to affect the plants with the help of X-

ray or ultraviolet rays were made by the Italian Alberto Pirovano in 1922. In 1925, G.A. Nadson and G.S. Filipov, reported that exposure to ionizing radiation leads to the appearance of mutations in the lower fungi. In 1927, Muller said that X-rays have a significant impact on the incidence of mutations of *Drosophila*, and a year later Stadler confirmed this data in studies with corn and barley. Genetic effects of ionizing radiation were deeply studied in plants and microorganisms. L.N. Delone in 1928 year and in 1934 year A.A. Sapegin used X-rays to produce mutations during selection

The aim of our research is to study the frequency and spectrum of morphological changes in the populations of the M_1 and M_2 sunflower and amaranth, grown from seeds of differently treated doses of gamma-rays

Three varieties of amaranth were involved in the experiment of *A. hypochondriacus* type: Sem, Kharkov-1, Student. Doses of irradiation – 15 Gy, 30 Gy, 40 Gy, 150 Gy, 400 Gy and 700 Gy. M_1 and M_2 sunflower plants served as the material for the study of the influence on the population, resulting from 12 self-pollinated seed treatment lines with gamma-rays (120 Gy and 150 Gy). The source of irradiation – ^{60}Co .

As a result of exposure to M_1 generation, the number of Morphosis that was received was associated with a change in the amaranth plant. The following anomalies were the most common: the branching of the main stem at the bottom; branching of the stem in the upper part; triple stem; spike clavate and brush, the check of which confirmed mutation presence in M_2 , the study of which will be continued in the M_3 .

Plants with the changes of morphological traits were selected in M_2 with the following signs: earliness, green or red brush, check of which will also be implemented in the M_3 . With radiation doses of 400 Gy and 700 Gy resulted with a death of visually normal plants. It can be explained by a mutagenic factor which causes stretching in the cells, so that the seeds germinate and then die.

M_1 sunflower generation analysis showed that the overall incidence of morphological changes caused by gamma-rays was high for all of the samples, which indicates their significant impact on the growth and development of the generation of the mutant sunflower.

In 2014, a wide range of morphological changes of various types have been allocated in the M_1 sunflower, is a violation of the synthesis of chlorophyll, a change in color, shape and size of the basket, warping habit plant, varying the height, leaf venation, their form and quantity, etc.

In 2015, we have highlighted a number of morphological mutations in the M_2 sunflower, which are inherited from the M_1 . The percentage of morphological changes in M_2 was lower compared to the M_1 , but it does not significantly affect the yield of somatic changes in the M_2 .

After analyzing the frequency and spectrum of morphological and physiological changes in the populations of M_1 and M_2 , sunflower and amaranth, grown from seeds treated with different doses of gamma-rays the following was found:

- gamma-rays doses of 120 Gy and 150 Gy are effective to induce broad spectrum and frequency morpho physiological changes in sunflower and amaranth.

- a number of different morphosis types of M_1 and M_2 generations of sunflower and amaranth were studied and isolated mutant forms of M_2 were checked, which confirmed the presence of the mutation.

Keywords: sunflower, amaranth, gamma rays, morphological change, population, mutagenesis, the dose of radiation.